



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA
LÍNEA CELULAR **Hz 24-7-15 CBiPS7-Sv4F-I12** EN
EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

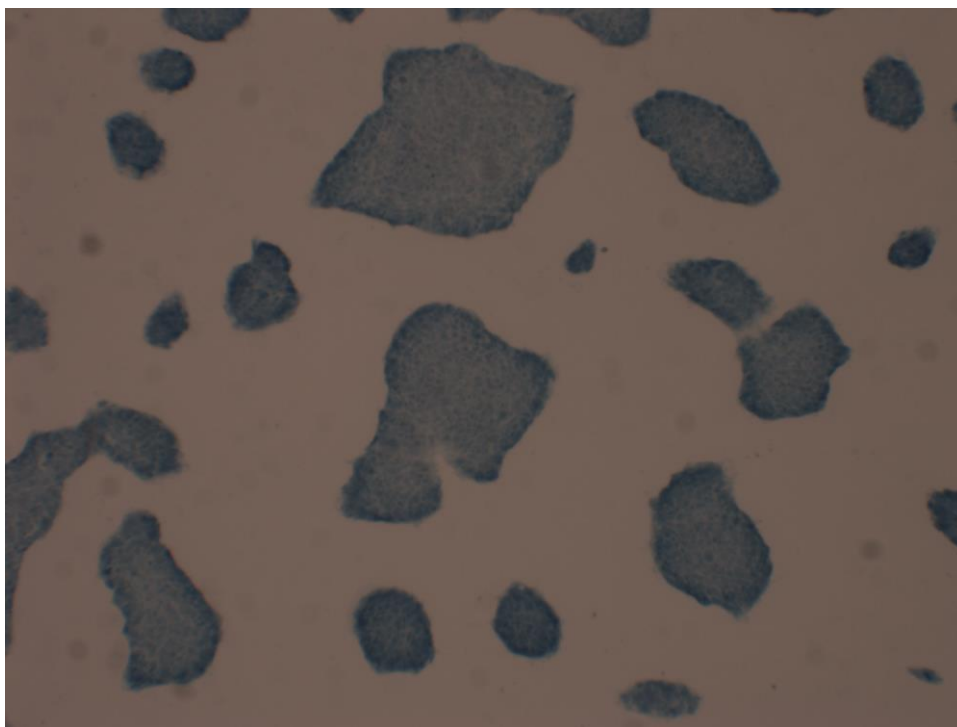
Anexo 4: Resultados microsatélites

Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

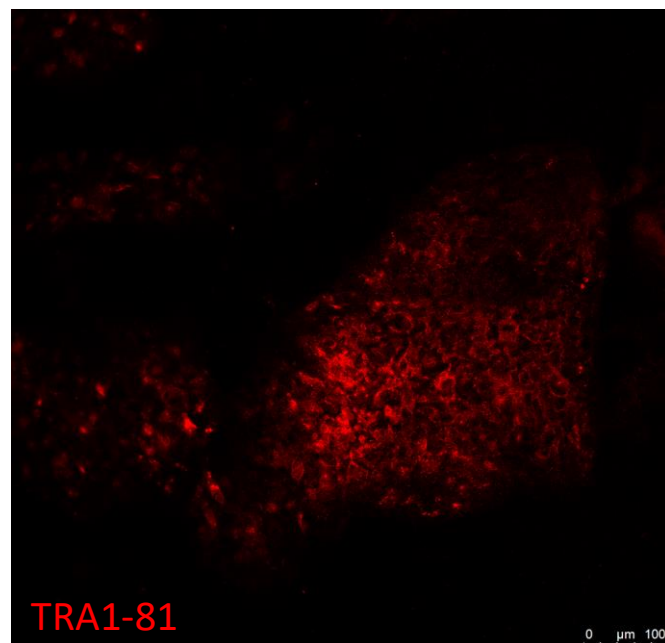
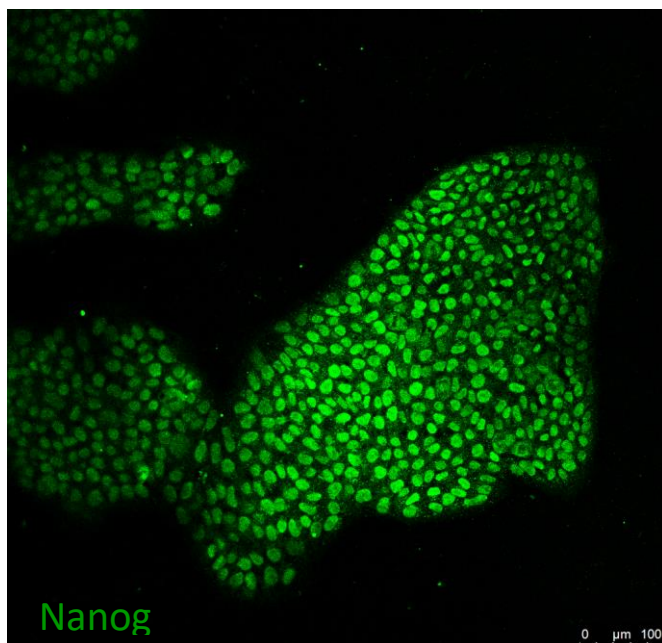
Anexo 6: Resultado test de micoplasma

Anexo 1

Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

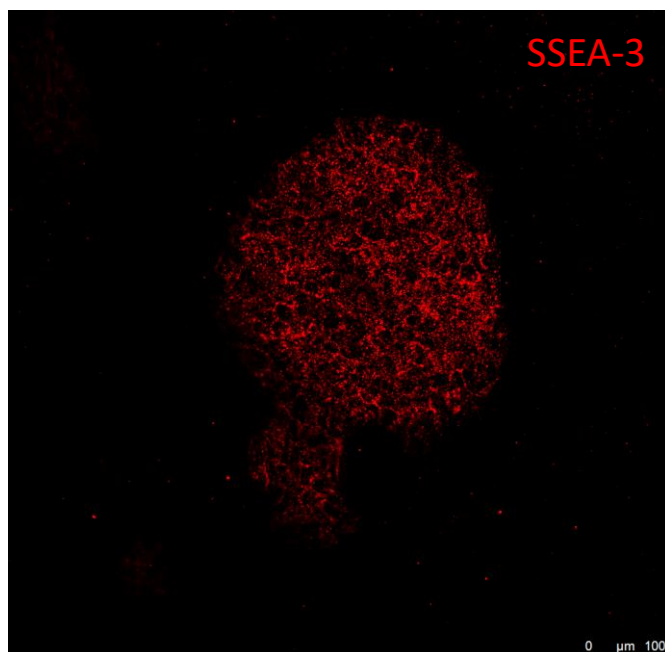
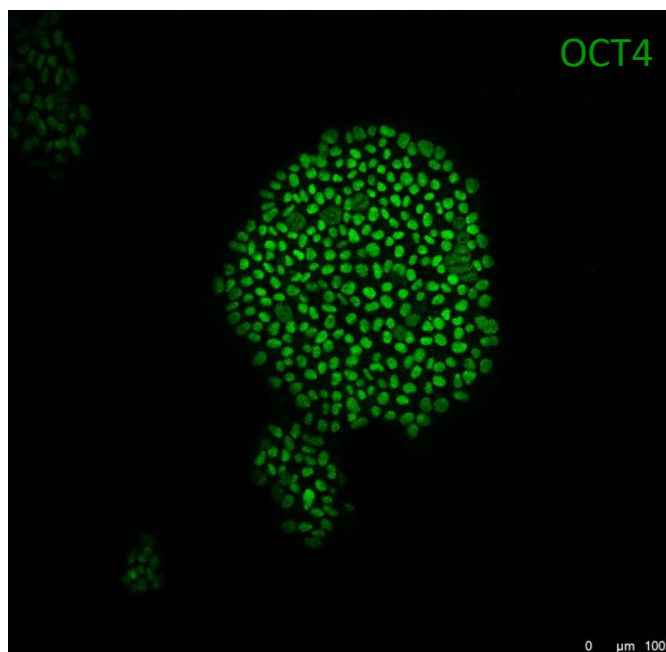


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



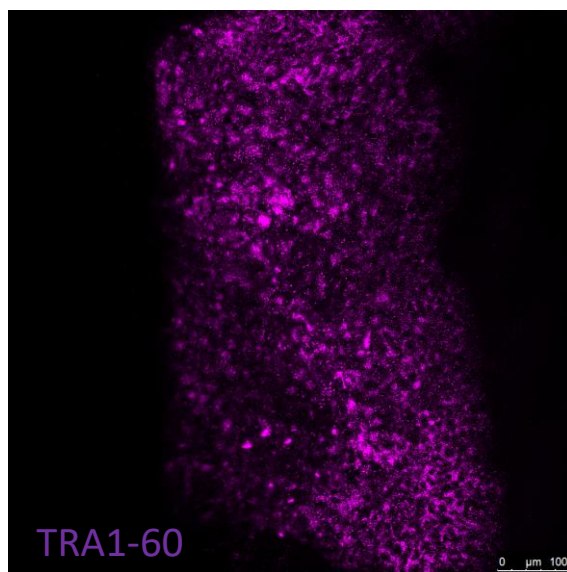
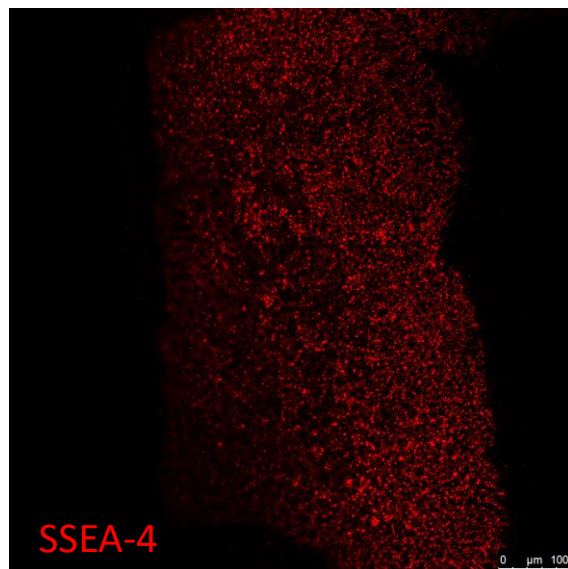
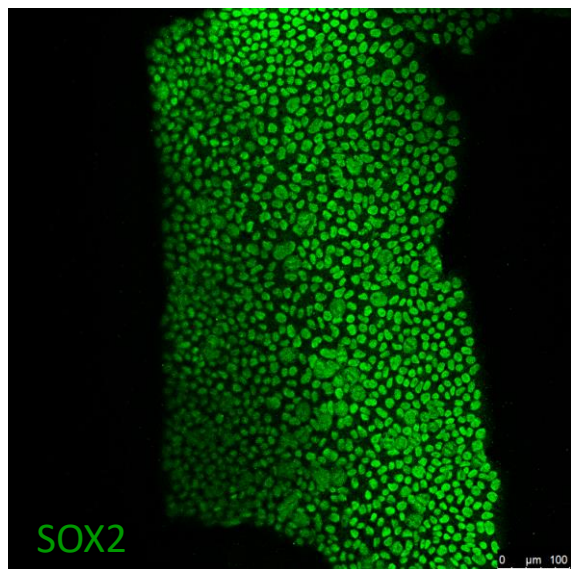
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Nanog y TRA1-81



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Oct-4 y SSEA-3



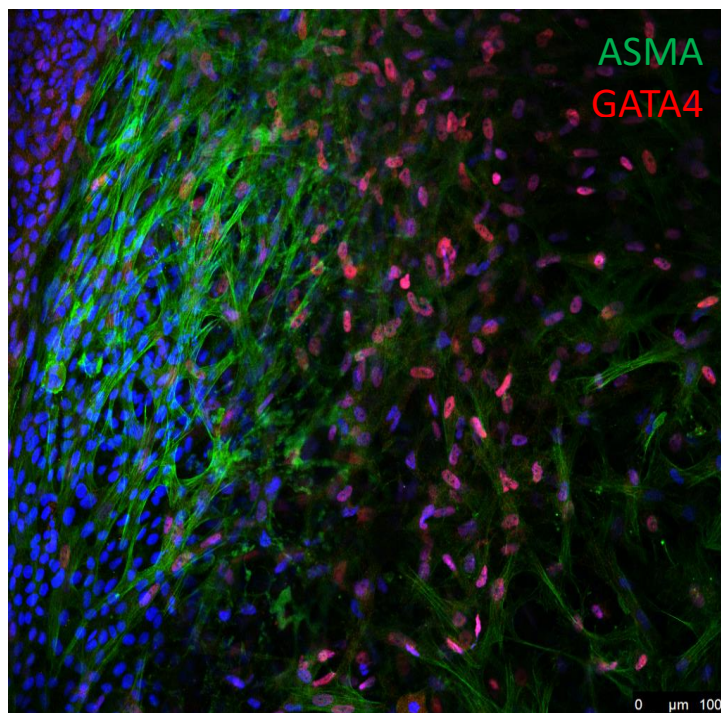
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60

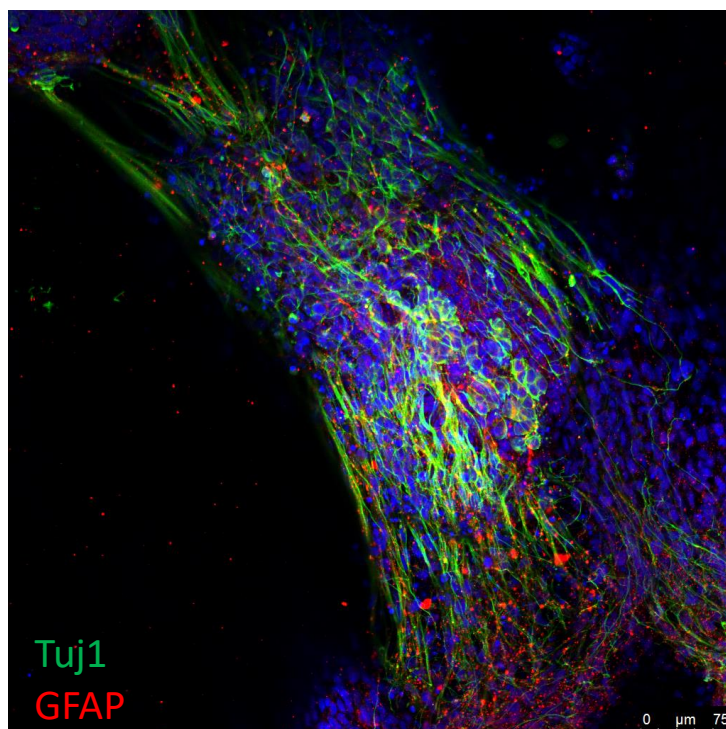


Anexo 2

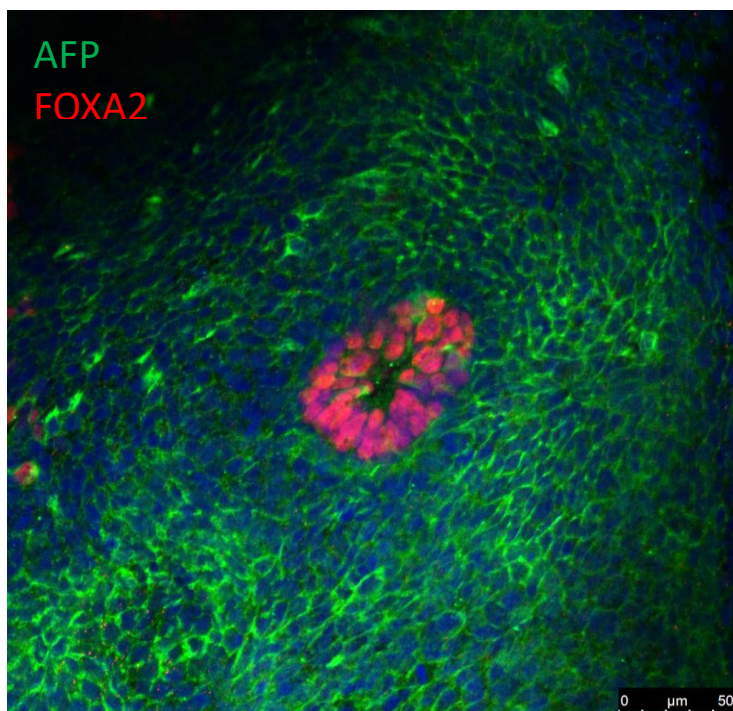
Diferenciación *in vitro*



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1 y GFAP**



Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**



Anexo 4

Cariotipo

CYTOGENETICS STUDY

Case name: 13331150

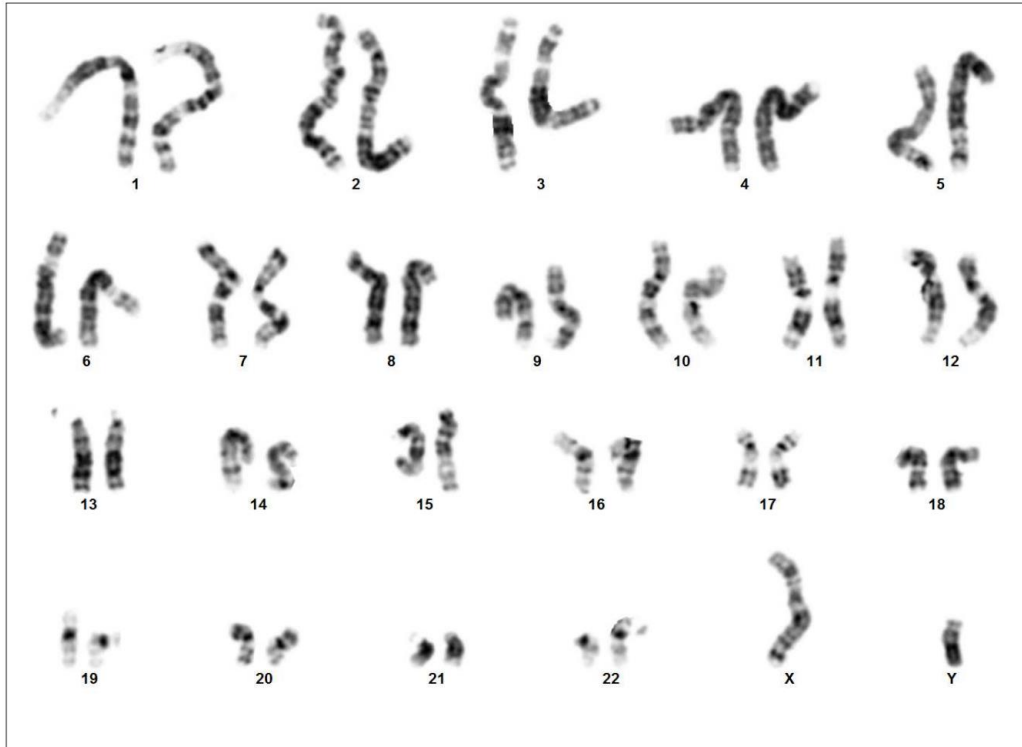
Department: Idibell

NHC: CT0328

Sample: CM

Name: Hz24-7-15CBiPS7-Sv4F-112p

Date: 12/15/2021



Case: 13331150 Slide: 1 Cell: 13F

Result: 46,XY



Anexo 4

Resultado microsatélites

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
Hz 24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I12 p13	6; 9.3	28; 32.2	11; 13	11; 12	9; 12	8; 13	10; 11	X; Y	14; 16	8

Barcelona, a 15 de diciembre de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

P-CMR[C]

RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

Línea celular	Loci STRs analizados									
	TH01	D21S11	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSP1PO	AMEL	vWA	TPOX
CD34 24-7-15, I, 10.05.21	6; 9.3	28; 32.2	11; 13	11; 12	9; 12	8; 13	10; 11	X; Y	14; 16	8

Barcelona, a 14 de julio de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células de las que procede.



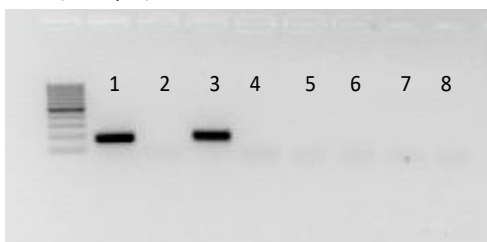
Anexo 5

Ausencia de los transgenes de reprogramación

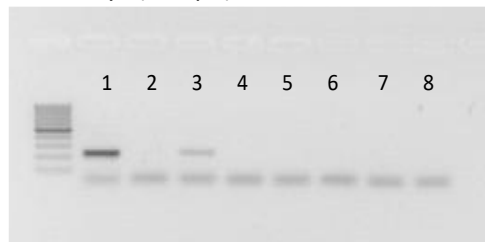
RT-PCR SENDAI 2.1

1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 4, P8
3. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 10, P6
4. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 12, P7
5. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 13, P6
6. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
7. SAMPLE NO RT
8. H2O

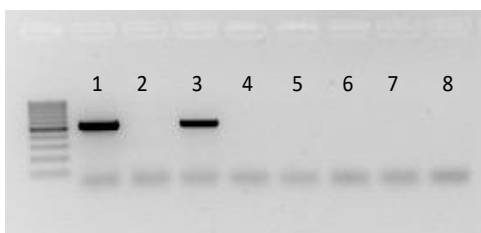
Sev (181 pb)



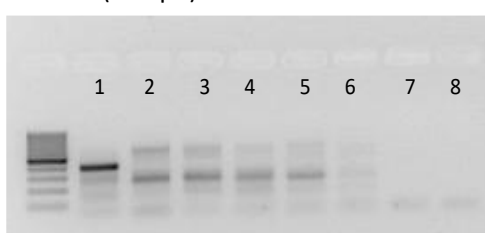
L- Myc (237 pb)



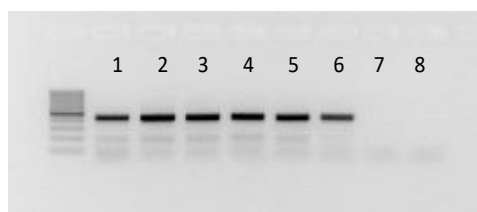
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



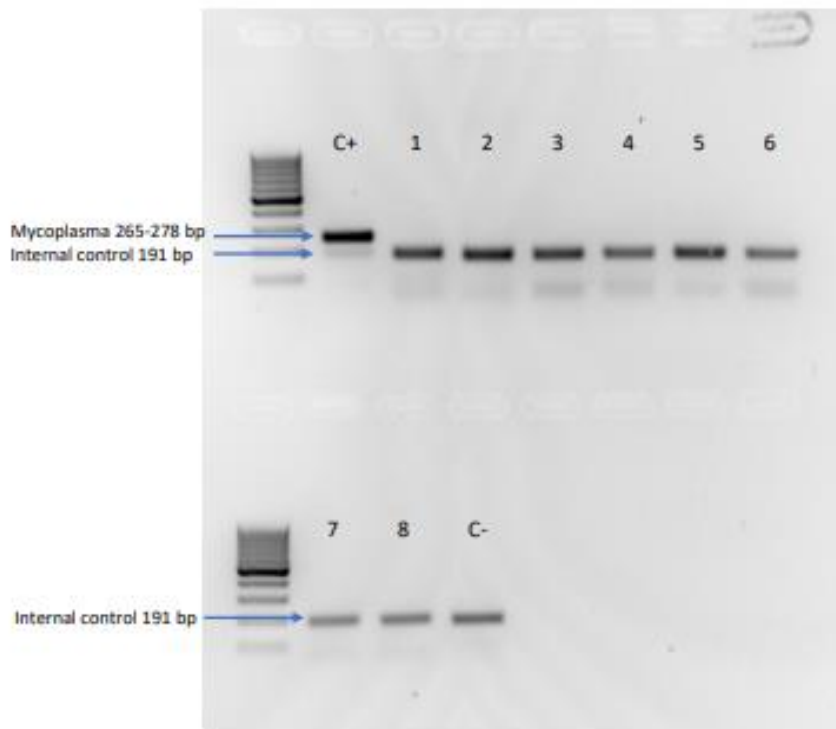
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



Anexo 6

Resultado test de micoplasma

Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 19/11/2021



3. Hz 33-14-1 CBiPS6-Sv4F H6 p13
4. Hz 24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I12 p10
5. Hz 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6 p13